

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1. HISTÓRICO

Em 1872 o dermatologista húngaro Moriz Kaposi relata os primeiros 6 casos de Sarcoma de Kaposi (SK), 5 deles em adultos e um em criança, 3 dos quais, foram a óbito no período de 12 a 16 meses, após surgimento de lesões. Kaposi descreve essa doença como uma desordem generalizada e agressiva e em um caso autopsiado mostra que o tumor atinge membros, face, tronco, faringe, laringe, traquéia, estômago, intestino delgado, fígado e cólon. (1)

Na década de 50 o SK aparece na forma endêmica na África equatorial, atingindo população de baixa faixa etária, ocorrendo o mesmo nos anos 60, com o início da terapia imunossupressora, em virtude da expansão dos transplantes, sendo detectado de 400 a 500 vezes mais na população em geral. (2)

Passados mais de 100 anos da primeira descrição de SK, seu agente etiológico ainda não é identificado. Em 1970, ao estudar as culturas das lesões provocadas pelo SK, com o intuito de descobrir o agente etiológico, suspeita-se que, provavelmente, pode ser um herpes vírus ou partículas retrovirais, tais como: o citomegalovírus, vírus da hepatite B (HBV), herpesvírus humano 6 (HHV-6) e o papilomavírus (HPV), mas tal teoria não é provada. (3, 4)

Com o início da epidemia da AIDS na década de oitenta, ocorre um aumento nos casos de Sarcoma de Kaposi (SK). Em 1981, são descritos alguns

casos de SK, proveniente de homens jovens que fazem sexo com homens (HSH), transmitido sexualmente e que apresenta uma alta taxa de infecção em Nova Iorque, São Francisco e Los Angeles, direcionando a procura da etiologia infecciosa do tumor. (2, 5, 6)

Em 1993, um grupo de pesquisadores norte-americanos descreve o método de RDA "*Representation Difference Analysis*" (Figura 1), capaz de identificar pequenas diferenças em segmentos de DNAs homólogos. Em 1994, usando esta técnica, Chang et al, identificam a seqüência de KS330₂₃₃, em 90% dos tecidos de SK-AIDS, e denominam de KSHV (Sarcoma de Kaposi associado a herpesvírus). (5, 6)

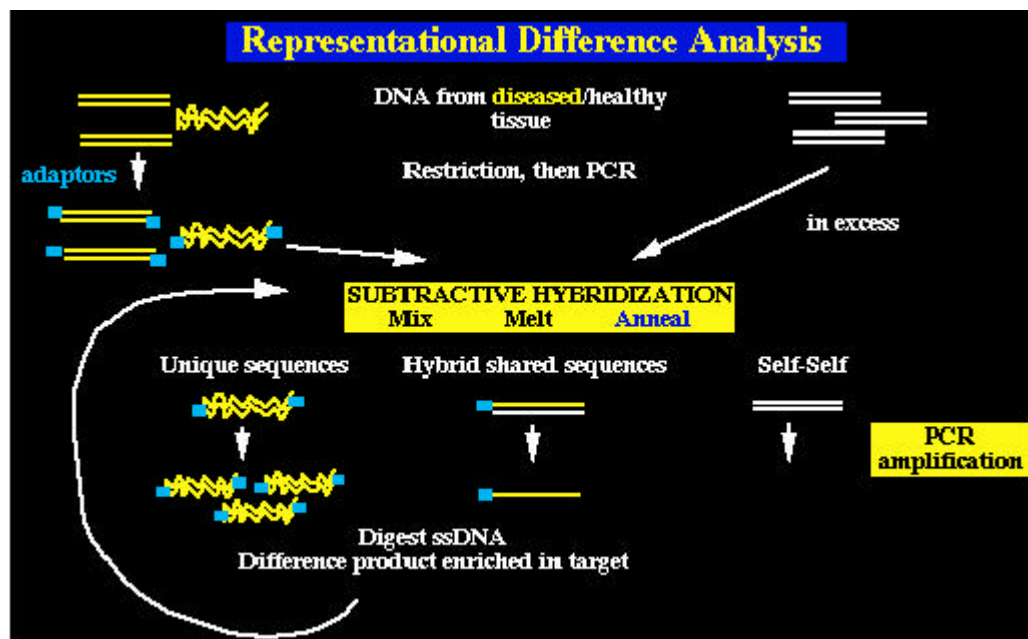


Figura 1: Representação esquemática do princípio da análise de RDA "*Representation Difference Analysis*". (6)

Vários agentes virais semelhantes ao citomegalovirus (CMV), Hepatite B (HBV), herpesvírus humano 6 (HHV-6), papilomavírus humano (HPV), herpesvírus humano 7 (HHV-7), Epstein Barr (EBV), herpes zoster (VZV), herpes simplex (HSV-1), herpesvirus Saimiri, são considerados como possíveis agentes etiológicos do SK, mas estudos realizados por Chang et al (1994), demonstram, que as seqüências de DNA destes agentes são relativamente baixas em pacientes com AIDS-SK. (6, 7, 8)

Outros estudos seguem utilizando a seqüência do KS330₂₃₃, e o KSHV é encontrado em casos de SK clássico associado a HIV. (9)

Huang et al. (1995), detectam o segmento KS330₂₃₃ em 87% dos casos de SK clássico; 70% dos casos de SK endêmico africano e 100% dos casos epidêmicos norte-americanos associados à infecção HIV/AIDS. (9)

Whitby et al. (1995), confirmam a presença do segmento KS330₂₃₃ em sangue periférico de indivíduos HIV positivos sem SK e em estudo longitudinal, 50% dos casos onde a seqüência viral têm sido detectada, desenvolvem SK. (10)

Outros estudos são realizados com o intuito de descobrir as possíveis formas de transmissão deste novo herpesvírus detectado. Entretanto, Mesri et al. (1996), são os primeiros a isolar e transmitir o KSHV para células CD19 positivas partindo de células de linfoma BCBL, cuja linhagem denominada BC-1, apresenta segmentos genômicos de dois vírus – KSHV e EBV. Ainda, este grupo sugere a denominação HHV-8 “*Human Herpesvirus 8*” para o novo vírus,

por ser ele detectado em casos de BCBL, AIDS e doença de Castleman e SK. (11)

Posteriormente, são realizados estudos com grupos de diferentes origens epidemiológicas: esporádico, endêmico, associado a drogas imunossupressoras, AIDS, formas clínicas (cutânea, mucocutânea e visceral) e variantes histológicas e em todos são encontrados seqüências do DNA do HHV-8. (7, 8)

Com as várias técnicas laboratoriais disponíveis é possível definir regiões endêmicas de HHV-8, populações expostas a risco epidemiológico e vias de transmissão do HHV-8. (6, 12)

O HHV-8 ocorre em todos os tipos de SK e, também, em algumas formas de linfoma Hodgkin's e não-Hodgkin's, chamado de linfoma por efusão primária (PELs) ou linfoma de células de cavidades do corpo "*Body-Cavity-Based – BCBLs*", em doença linfoproliferativa angiofolicular (Doença de Castleman's), em mieloma múltiplo e, principalmente, em pacientes HIV positivos. (13, 14, 15, 16)

Entretanto, é impressionante verificar que em poucos anos após a descoberta do agente etiológico é possível isolar, transmitir e produzir partículas virais que são utilizadas no mapeamento do genoma viral e na implantação de técnicas diagnósticas. Assim, os estudos subseqüentes possibilitam a introdução de medidas profiláticas e terapêuticas adequadas, evitando a disseminação do agente etiológico e melhorando a qualidade de vida dos pacientes. (17, 18)

Atualmente, novos estudos estão sendo relatados considerando o tipo de SK, o estágio do tumor, órgãos envolvidos, condição clínica global e imunológica, como a importância de determinar a contagem de células CD4 para os casos de SK epidêmico e tem sido fatores de prognóstico para prever a sobrevivência em pacientes com SK. (17)

Estudos para a terapia do HHV-8 com antivirais têm sugerido resistência pelo aciclovir e penciclovir, mas têm apresentado sensibilidade pelo ganciclovir, cidofovir, adefovir e foscarnet. (19)

Em pacientes com SK/AIDS, a administração da terapia HAART, o uso de inibidores de protease, indinavir ou saquinavir, bloqueiam o desenvolvimento e induzem a regressão da angioproliferação em lesões promovidas por células primárias do SK humano. (20)

Existem outros tratamentos para SK, como a crioterapia, terapia por radiação, laser, quimioterapia e outros tratamentos experimentais com β -HCG como inibidor de crescimento das células de SK, Talidomida e Paclitaxel, terapia sistêmica com Interferon α para pacientes com SK/AIDS. (21, 22, 23)

1.2. HERPESVIRUS HUMANO TIPO 8 (HHV-8) – GENOMA

O HHV-8 apresenta-se como partículas de 100-150 nm, circundadas por um envelope lipídico e um core eletrodenso central, onde se encontra o ácido nucléico, DNA de fita dupla. (Figura 2) Os capsômeros em forma de anel, de aproximadamente 9 nm de diâmetro, estão arranjados de forma linear ao longo do capsídeo (24, 25, 26)

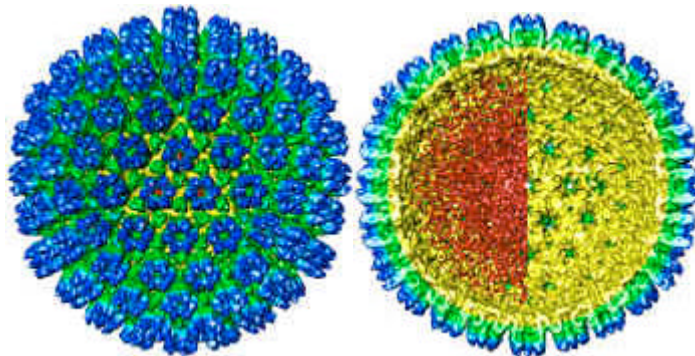


Figura 2: Estrutura de um herpesvírus.

O genoma do HHV-8 é constituído de uma dupla fita de DNA linear, (Figura 3), com aproximadamente 165 Kb e possui mais de 80 ORFs “*Open Reading Frames*” arranjadas em uma longa e única região flanqueada por múltiplas unidades terminais de 801 pb ricas em G e C. (6)

regulação imune estão claramente relacionados com a patogênese do HHV-8. No entanto, essa regulação não está totalmente definida. (28)

1.3. DIVERSIDADE FILOGENÉTICA E CLASSIFICAÇÃO DOS SUBTIPOS DE HHV-8

Na análise filogenética, o KSHV foi classificado como um gamaherpesvirus-2, sub-família *Gammaherpesviridae*, gênero *Rhadinovirus*, sendo o primeiro gamaherpesvirus-2 reconhecido capaz de infectar o homem. (29, 30, 31)

Em 1997, Zong et al, analisando seqüências da ORF 75 sugere que o HHV-8 fosse classificado em três subtipos designados: A, B e C. O subtipo A é encontrado em pacientes com AIDS e SK dos EUA e SK clássico do Mediterrâneo; o subtipo B é encontrado em pacientes Africanos com SK endêmico; e, o subtipo C é descrito em pacientes com AIDS avançado, procedentes de Nova Iorque. (32)

Entretanto, a ORF75 é uma região muito pequena e conservada do genoma viral, sendo inadequada para caracterizar a diversidade genética do HHV-8. (33)

Em novo estudo realizado por Zong et al (1999), analisando a região K1 (Figura 4), do HHV-8 e descrevem quatro diferentes subtipos em 63 amostras de biópsias obtidas de pacientes com diferentes formas de SK dos EUA, África

Central, Arábia Saudita, Taiwan e Nova Zelândia. Dentre os quatro subtipos o subtipo A é detectado em amostras de SK de pacientes com AIDS dos EUA, o subtipo B é detectado em amostras de SK endêmico de pacientes Africanos; e o subtipo C em um paciente com SK iatrogênico pós-transplante renal da Arábia Saudita; e, o subtipo D é detectado em três amostras de SK clássico, em pacientes de Taiwan e, em dois outros da Nova Zelândia. (34)

Em diversos estudos, a região ORF K1 do genoma do HHV-8 é analisada, para determinar diversidade genética do HHV-8. Cook et al. (2002) analisam 58 amostras de DNA obtidas de biópsias de SK ou de linfócitos periféricos de pacientes com SK da Europa e da África e observam ser os subtipos A e C mais prevalentes entre pacientes com SK de origem Européia, e o subtipo B é mais comum entre os Africanos de Uganda e da Gâmbia. (34, 35)

Caterino-de-Araujo et al. (1998), com base na publicação de Di Alberti et al. (1997), sobre variantes HHV-8, identifica em São Paulo subtipos B e C de HHV-8 como detectados na Europa (Itália e Reino Unido). No entanto, levando-se em conta a classificação de Zong et al. (1997), os isolados brasileiros são diversamente tipados como A (1 caso), B (1 caso), B' (2 casos), C (2 casos), e outro (1 caso), mostrando padrão misto africano e norte-americano. (32, 36, 37)

No estudo de tribos indígenas da Amazônia, um subtipo não descrito anteriormente é detectado quando a ORF K1 é amplificada. Neste, as amostras de linfócitos são examinadas por PCR e, dois indivíduos sem sinais de SK, estão infectados por um subtipo não previamente identificado, designado como subtipo "E". (38)

Nascimento et al. (2005), estudam a caracterização molecular em pacientes com SK/AIDS em São Paulo, Brasil, analisando 37 amostras de 33 pacientes, encontram os subtipos A, B e C em 48%, 21% e 30% respectivamente, incluindo 2 pacientes infectados com o subtipo A5, um dos primeiros reportados no Brasil. Verifica-se, que esses subtipos estão associados às práticas sexuais, e observa-se que 12/14 (86%) pacientes com subtipo A são homo/bisexuais, comparados 3/8 (38%) pacientes infectados com subtipo C ($p= 0.005$). Uma alta proporção com subtipo C é caucasiana [7/8 (87%)], comparado com 7/16 (44%) entre homens com subtipo A ($p= 0.08$). (39)

Outros estudos utilizando genes como o K14.1 e K15, também apresentam elevados graus de variabilidade genética. (35). Ao analisar a região à extrema direita do genoma do HHV-8 (ORF K15), dois alelos altamente divergentes, designados P e M são identificados. Estes alelos são codificados a partir da ORF K15, que apresenta homologia com a proteína LMP2 de latência do EBV, que tem a propriedade de imortalização de linfócitos B. (40). Esses subtipos permitem classificar todos os subtipos de HHV-8 como P (predominante) e M (minor) e vem sendo úteis marcadores na escala de evolução devido ao baixo nível de variação nucleotídica que apresentam. (41)

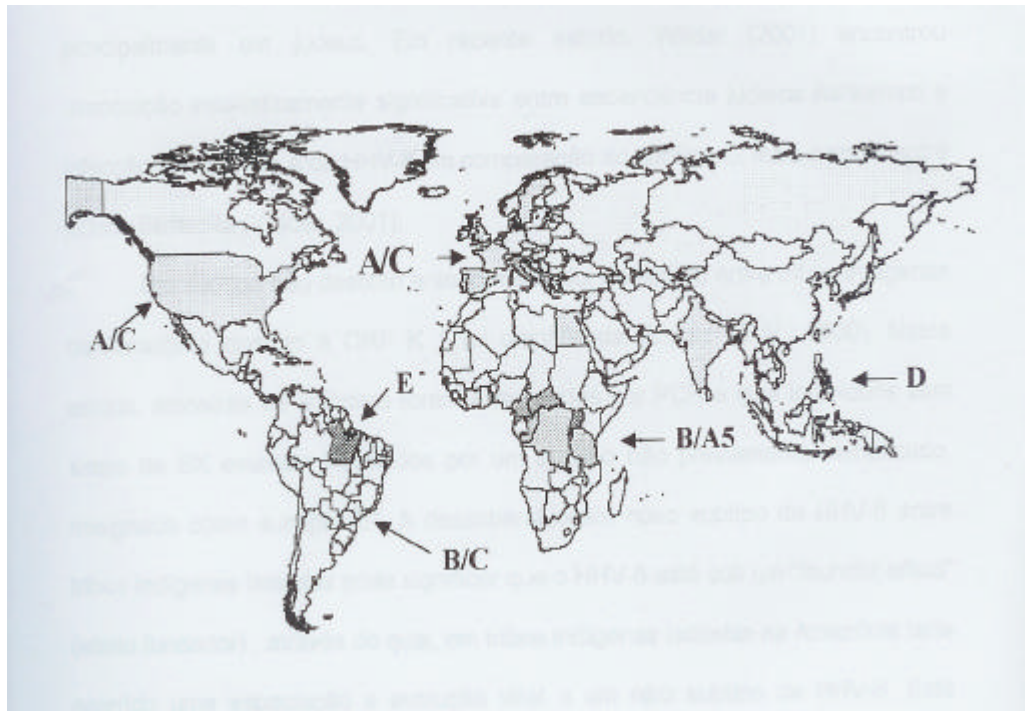


Figura 4: Representa a distribuição geográfica dos cinco subtipos de HHV-8, baseada na variabilidade do gene K1.

1.4. PATOGÊNESE

Em contraste com outras herpesviroses pouco se sabe sobre a infecção primária do HHV-8. Atualmente, ainda, há dúvidas sobre o mecanismo pelo qual o HHV-8 pode promover o desenvolvimento do Sarcoma de Kaposi ou outras doenças malignas, mas, provavelmente, envolve a expressão de proteínas reguladoras do ciclo celular e citocinas homólogas às humanas. (42)

A oncogênese viral do HHV-8 compreende-se por possuir genes homólogos aos genes celulares que poderiam contribuir na patogênese. A aquisição de genes do genoma celular é uma característica comum entre os herpesvírus, principalmente entre os *Rhadinovirus* e, embora, cada um adquira genes celulares diferentes, as funções destes, provavelmente, convergem para três metas comuns: 1) aumentar a replicação do DNA viral, independentemente do ciclo celular, através da produção de enzimas que participam do metabolismo de nucleotídeos; 2) expandir o número de células infectadas, aumentando a quantidade de nucleotídeos disponíveis, assim, ocorrendo não só o acréscimo da replicação do DNA, como também, a proliferação de células transformadas; e, 3) neutralizar a resposta do hospedeiro à infecção. (43)

Alguns trabalhos descrevem a infecção pelos herpesvírus caracterizada, inicialmente, com a interação entre as glicoproteínas do envelope viral e a matriz extracelular. Uma segunda interação da glicoproteína com receptores na membrana celular promove a fusão e a liberação do conteúdo viral para o citoplasma da célula hospedeira. O núcleocapsídeo é deslocado para a superfície nuclear através de microtúbulos e o DNA viral é liberado para o interior do núcleo, passando da forma linear para a circular (episomal), não integrada. Uma proteína do envelope, a VP16, interage com o material genético da célula hospedeira promovendo a transcrição de proteínas virais denominadas antígenos latentes ou LANA "*Latency associated nuclear antigen*". Eles são expressos durante a fase de latência ou na fase de ativação (lítica), sendo que na fase de latência podemos destacar os principais fatores que

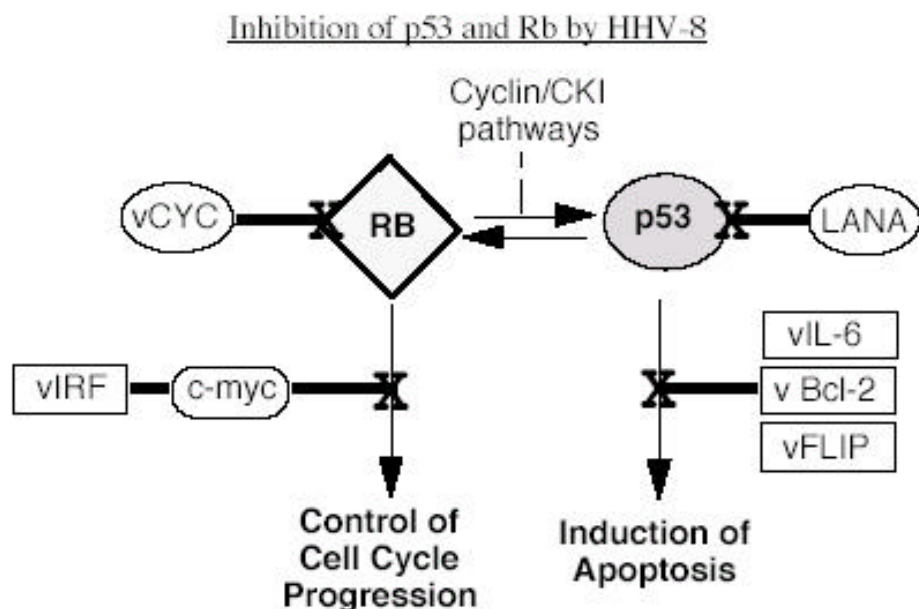
atuam no processo patogênico como o fator de necrose tumoral α (TNF α), interleucina 1, interleucina 2, interleucina 6, fator estimulante de colônia granulocítica - macrocítica (GM-CSF), fator de crescimento de fibroblasto básico (bFGF), e glicocorticóides. Apesar desses fatores estarem relacionados ao processo patogênico, os mesmos não induzem a fase lítica. Entretanto, na fase lítica atuam fatores reguladores que parecem importantes para o processo inflamatório e para a angiogênese de lesões de SK, tais como o fator regulador do interferon viral (K9, vIRF), receptor da proteína -G - acoplado virótico (ORF 74, vGPCR) e ORF K1. (44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54)

Quando ocorre o estímulo, as proteínas estruturais são produzidas no citoplasma da célula hospedeira, caracterizando a fase lítica da infecção viral. (55) As infecções causadas por herpesvírus geralmente induzem a resposta humoral (produção de anticorpos), entretanto, os mesmos não são adequados para evitar a infecção, mas auxiliam o diagnóstico sorológico, uma vez que, é detectável no organismo. Alguns anticorpos persistem durante a fase de latência viral, enquanto o DNA fica limitado a uma pequena população de células do hospedeiro. Assim, certos anticorpos dirigidos aos herpesvírus são aceitos como indicadores de infecção latente. (56) Portanto, a identificação da infecção aguda pode ocorrer pela pesquisa de anticorpos dirigidos de fase latente e lítica de replicação viral nesses casos, podem ser utilizados estimulantes *in vitro* como o forbol éster e butirato, que permitem a

transformação do genoma da forma circular para a linear e, conseqüentemente, a produção de células na fase lítica viral. (57)

O antígeno nuclear latência-associado (LANA) de HHV8 (codificado por ORF 73) pode agir como um regulador da transcrição e modificar a expressão de genes virais e celulares. (44)

Estudos realizados por Friborg et al. (1999), demonstram que o antígeno nuclear principal associado à latência (LANA) pode reagir com a p53, um potente regulador do crescimento celular, que induz a célula a apoptose (Figura 5). A perda da função da p53 correlaciona-se com a transformação celular e perda da habilidade de indução de morte celular. O LANA altera a função da p53, acarretando o aumento do crescimento celular. (58)



Antman & Chang. N. Engl. J. Med. 342:1027, 2000.

Figura 5: Representação esquemática da inibição do p53 pelo LANA.

A produção de ciclinas virais acelera a proliferação celular e, proteínas similares às proteínas inflamatórias de macrófagos atraem células susceptíveis, expandindo, assim, o “pool” de células infectadas. (59)

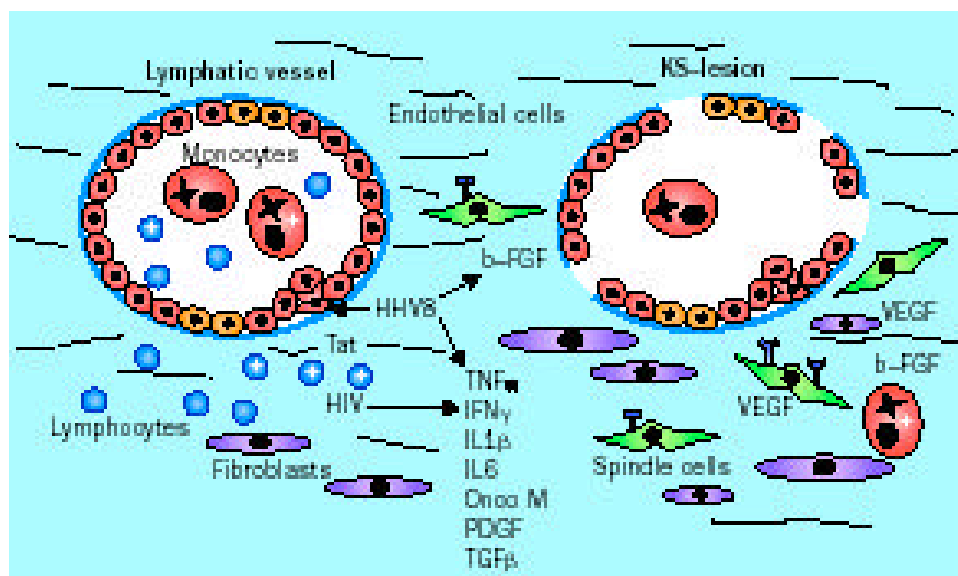


Figura 6: Representa um esquema da patogênese do SK .

O gene K1 codifica uma proteína de membrana com a mesma porção intracitoplasmática e região transmembrana dos genes transformadores dos outros *Rhadinovirus*, que poderia atuar como um gene de transformação. Outro gene que poderia estar envolvido na transformação celular é o gene Kaposin (ORF K12), capaz de induzir transformação oncogênica em células Rat-3 e ativar quinases celulares, que desempenhariam importante papel na

proliferação celular. (60, 61). No caso da interleucina 6 viral, codificada por ORF K2, que em muitas formas simula a interleucina 6 humana, tem ação multifuncional e promove a hematopoiese, plasmocitose e a angiogênese. (47, 48)

A angiogênese é importante para o crescimento tumoral, e o HHV-8 parece apropriar-se de genes celulares pertinentes a esse processo. Um destes é ORF 74, que codifica um vGPCR e é homólogo ao receptor de interleucina 8. Assim, eventualmente, a sinalização por vGPCR conduz a regulação da expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (Figura 6), induzindo, portanto, a angiogênese por mecanismo parácrino. (48, 54)

A participação de dois genes (Tabela 1) que produzem a vBCL-2 (ORF16) e a vFLIP (ORF71), prolongam a meia vida das células infectadas através da inibição da apoptose, dessa forma, contribuindo para o crescimento celular desregulado e favorecendo o desenvolvimento de neoplasias. (62, 63)

A ciclina viral tem ação semelhante a ciclina humana, pois pode ativar as quinases e permitir a fosforilação, dessa forma, ocorrendo à inativação da proteína que inibe a entrada na fase S. (43, 44, 45)

O HHV-8 estabelece uma infecção persistente na maioria das *spindle cells* (Figura 7), como demonstrado pela expressão de genes das ORF K12, ORF72 e ORF73 (50, 51). Esses genes são expressos em linhagens celulares BCBL e, suas expressões não são aumentadas por agentes que induzem a replicação viral (15, 64). Uma subpopulação das *spindle cells* (até 10%) contém vírus replicantes (60, 61). O padrão de distribuição das *spindle cells*

expressando o mRNA T1.1 codificado pelo HHV-8 nas lesões de SK é similar ao daquelas *spindle cells* infectadas líticamente, definidas pela expressão de mRNA para a proteína principal do capsídeo (codificada pela ORF 25) (64). A expressão de T1.1 “*viral thymidylate synthetase gene*”, pode, então, ser indicativa de replicação lítica dentro das lesões de SK.

Tabela 1: Cita os principais genes, e as respectivas proteínas envolvidas no desenvolvimento do SK. (65, 66, 67)

Gene do HHV-8	Proteína do HHV-8	Expressão no SK	Propriedades funcionais
K1	Proteína K1	Células líticas	Sinalização e crescimento celular
K2	vIL-6	Sem evidência	Citocina e crescimento celular
K4/4.1	VMIP- II, III	Células líticas	Quimiocina e angiogênese
K6	VMIP-1	Células líticas	Quimiocina e angiogênese
K13	VFLIP	Células latentes	Inibição da apoptose
ORF 16	VBcl-2	Células líticas	Inibição da apoptose
ORF 72	v-ciclina	Células latentes	Controla o ciclo celular
ORF 73	LANA	Células latentes	Controla o ciclo celular e Persistência epissomal
ORF 74	v-GPCR	Células latentes	Crescimento celular e estimulação parácrina de fatores necessários para a manutenção do SK

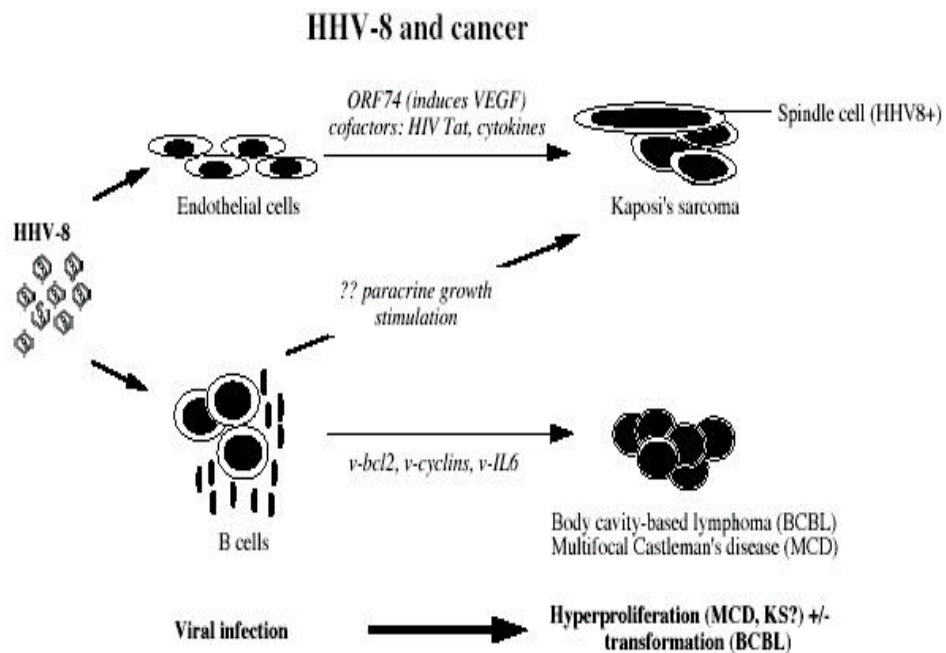


Figura 7: Representa a relação do HHV-8 e o câncer.

Os fatores que levam à ativação do vírus *in vivo* não são bem conhecidos. Porém, condições de imunossupressão e a proteína *tat* do HIV parecem contribuir para esse processo. (44)

Aluigi et al. (1996), mostraram que em lesões “antigas” de SK ou, após tratamento com antivirais específicos para o grupo herpes, havia falha na detecção de segmentos virais do HHV-8 em material de biópsia. Por outro lado, em lesões “novas” e em processo de reagudização foram detectados segmentos virais por PCR e partículas virais por técnica de co-cultura. Esses achados confirmaram a hipótese que o HHV-8 permanece em estado de

latência nos tecidos e, sob estímulos ainda pouco conhecidos, passam para a forma lítica infectante (fase aguda da doença e processo de reagudização). Isso explica a dificuldade na detecção do agente etiológico do SK durante estes anos. (68)

1.5. EPIDEMIOLOGIA E MODO DE TRANSMISSÃO

Após a descoberta do HHV-8, a soropidemiologia e a análise de DNA são as ferramentas utilizadas para estudar a distribuição geográfica do SKHV. (69)

A soroprevalência do HHV-8 varia de acordo com as diversas regiões do mundo; é muito elevada em alguns países da África, moderada na Itália e menor em outros países ocidentais. (70)

Os estudos epidemiológicos sugerem que o HHV-8 seja transmitido, principalmente, por via sexual. Isso demonstra a maior prevalência em populações com maior número de parceiros sexuais, tempo de atividade homossexual do paciente e, em indivíduos com evidência de promiscuidade sexual. (71)

Kedes et al. (1996), demonstram que a presença de anticorpos anti-HHV-8 em indivíduos HIV-negativos, portadores de doenças sexualmente transmissíveis é significativamente maior do que em doadores de sangue

infectados com HIV. Além disso, a reatividade de anticorpos HHV-8 é comum em homossexual e homens bissexuais com HIV (que geralmente desenvolvem o SK) por volta de 30% a 40%, mas muito raro, nos outros grupos com HIV positivo relacionado a outros grupos, tais como: os hemofílicos e os receptores de transfusões sanguíneas infectadas, onde a reatividade de anticorpos HHV-8 é respectivamente 4% e 3% e, em conseqüência, estes grupos raramente desenvolvem o SK. (56, 71)

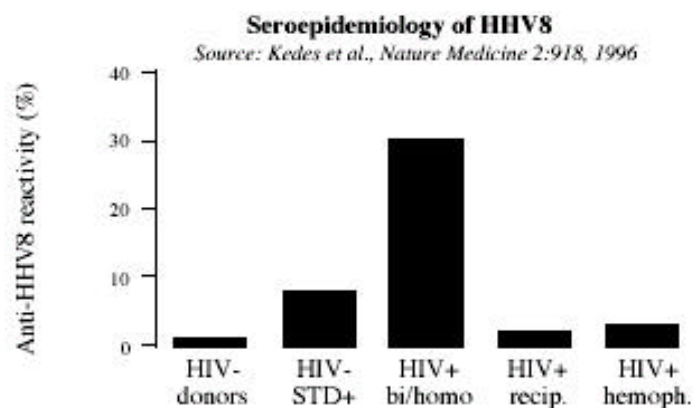


Figura 8: Representa a soroprevalência do HHV-8 no mundo.

Segundo gráfico da Figura 8, a soropositividade ao HHV-8 é muito mais freqüente em populações expostas a DST (em especial, homens que fazem sexo com homens – HSH) e, também, está diretamente relacionado ao número

de parceiros sexuais que uma pessoa tem, ou seja, quanto maior o número de parceiros sexuais, maior a prevalência de anticorpos HHV-8. (71)

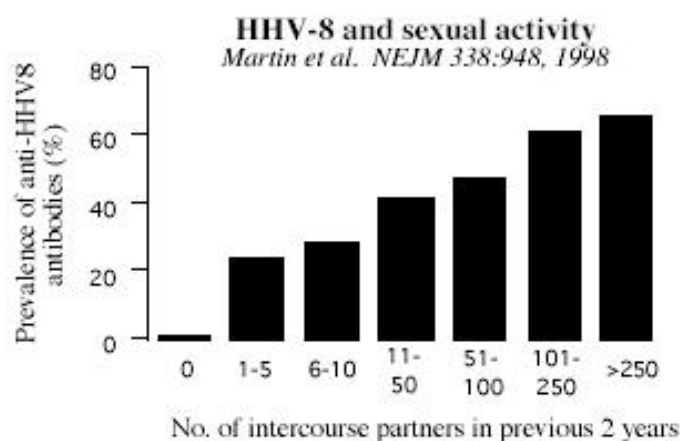


Figura 9: Representa a soroprevalência do HHV-8 e a atividade sexual.

O HHV-8, também, é encontrado em tecido de próstata e em sêmen humano, sugerindo que esse vírus possa ser transmitido dessa maneira. (72)

O modo preciso da transmissão de KSHV entre homossexuais ainda é discutido, sendo que pode ser exclusivo ou uma combinação destes: oro-genital, oro-oral, ou ano-genital receptivo ou sexo receptivo. (73)

Vitale et al. (2000), realizam um estudo de prevalência para evidenciar a transmissão homossexual na cidade de Palermo (Itália), e verificou que a soroprevalência de HHV-8 encontrada em freiras é semelhante a um grupo pareado de mulheres da região, 27% e 24%, respectivamente. Nesse estudo,

utilizando a técnica de Nested PCR, foram encontradas seqüências de DNA em 7/16 (43,8%) amostras de saliva e PBMC de pacientes com SK clássico, e em 3/7 (42%) pacientes AIDS/SK, e detectaram seqüência de DNA em 2/12 (17%) um em saliva e a outra em PBMC, provenientes de indivíduos saudáveis e com HHV-8 positivo, sugerindo que a transmissão do HHV-8 seja transmitida via saliva na população de regiões endêmicas. (74)

Ainda que a transmissão sexual (Figura 9) seja a mais freqüente em sua situação epidêmica, há evidências de transmissão não-sexual na forma endêmica. Em alguns países da África e na Itália, a soropositividade é indistinta em relação ao sexo e há evidências de transmissão durante a infância (70, 75). Em países da África Central, a presença de anticorpos ao vp19/ORF65 e LANA tem sido significativa em crianças e adolescentes, sugerindo que a infecção por HHV-8 ocorra por transmissão não sexual (76). Essa hipótese, também, foi discutida por Lenette et al. (1996), que detectaram uma prevalência de anticorpos anti-fase lítica de 2-8% em crianças. Acredita-se que mulheres e crianças sejam apontadas como os principais veículos de transmissão não endêmica, ou seja, transmissão horizontal, dentro de um convívio familiar, sobretudo através da saliva ou outros fluidos biológicos. (12, 77)

Em outro estudo de prevalência de HHV-8 entre familiares, sugere-se que possa ocorrer transmissão de forma horizontal. Há hipótese de que o HHV-8 tem a capacidade de replicação na orofaringe e que a partícula viral esteja presente na saliva. Outros herpesvirus, incluindo CMV, HSV e provavelmente o HHV-6 e 7, podem ser transmitidos pela saliva. O número de cópias de DNA do

HHV-8 encontrados na saliva é muito mais alto do que em outros tecidos, demonstrando assim, que a saliva pode ser um fator de risco para a infecção. (78, 79, 80, 81)

Estudos sorológicos mostram, que a detecção de anticorpos anti HHV-8 se inicia logo após o nascimento, estando diretamente relacionado com os anticorpos maternos. Os anticorpos desaparecem e, em seguida, tornam a serem detectados a partir dos cinco anos de idade e atingem uma fase de equilíbrio na puberdade e aumentam na fase adulta. (38, 73, 82, 83, 84, 85, 86)

Na região endêmica da África é alta a prevalência de anticorpos anti HHV-8 durante a infância. Em Camarões, a soroprevalência é de 27.5% em crianças com 4 anos de idade, 39% nas crianças de faixa etária de 12 a 14-anos e 48% em jovens com 15 anos de idade. (82). No Egito, a soroprevalência de anticorpos para HHV-8 excede 50% em crianças a partir dos 6 anos de idade, estabilizando aos dez anos de idade (84). Na África do Sul, a infecção de KSHV é comum entre crianças antes da puberdade e eleva-se quando atingem a juventude. (87)

Acredita-se que a principal rota de transmissão da infecção pelo HHV-8, que ocorre em crianças menores de 10 anos de idade seja vertical, podendo ser durante a gestação ou no período pós-parto, embora, ainda não esteja totalmente esclarecida (88).

He et al. (1998), realizam um estudo na Zâmbia em três grupos para verificar a transmissão do HHV-8 entre mães e crianças. O primeiro grupo é constituído por 378 mulheres grávidas sem SK, sendo 103 HIV-1 positivas e

275 HIV-1 negativas, soroprevalência para HHV-8 é semelhante entre os dois grupos 51,1% e 47,3%, respectivamente. O segundo grupo é composto por 21 mulheres com SK e o terceiro por 5 crianças com SK. No segundo grupo, somente, duas mulheres não apresentaram resultado positivo para o teste de IFA LANA, e todas as crianças apresentaram sorologia positiva, também foi avaliada a sorologia das mães destas crianças e os resultados foram positivos. Dentre as mulheres com SK, 7 tinham filhos e, somente, em 1 das crianças detectou-se anticorpos para HHV-8, porém, essa criança tinha apenas 1 mês de vida e, acredita-se que esses anticorpos podem ser maternos. Os dados sugerem que nem todas as mulheres soropositivas terão crianças infectadas pelo HHV-8, mas toda criança infectada tem mãe soropositiva. Entretanto, não podemos excluir a possibilidade de que algumas crianças tenham adquirido infecção pelas mães de forma vertical ou horizontal. (89)

Mantina et al. (2001), investigando se esse agente pode ser transmitido verticalmente de mãe para criança, realiza um estudo com 89 mães soropositivas para KSHV e nas crianças recém-nascidas das mesmas, e determinam uma soropositividade de 83,1% (74/89) nas crianças nas primeiras 24 horas de vida. No estudo molecular, detectam DNA em PBMC de KSHV em treze mães (14.6%). Entretanto, somente duas crianças apresentam resultados positivos para DNA, sendo ambas filhas de mães HIV-1 negativas e positivas para DNA de KSHV. Esses resultados sugerem que KSHV possa ser transmitido de forma perinatal. (90)

Estudo realizado por Lyall et al. (1999), relata que ainda não está esclarecido se o HHV-8 atravessa a placenta, se ele é secretado no leite materno e se pode haver transmissão através do contato genital durante o parto. (91)

Kedes et al. (1997), realizam um estudo com mulheres na cidade de São Francisco para detectar anticorpos de KSHV e 13/387 (3.4%) mulheres apresentam anticorpos, das quais, 12 também são soropositivas para HIV. Em Londres, 13/169 (18,3%) mulheres provenientes de região endêmica que apresentam doenças sexualmente transmissíveis (DST+) são soropositivas para KSHV. Estudos relatam, que o KSHV pode ser encontrado em secreções cervicovaginal de mulheres portadoras de HIV, sendo que não há certeza se estas mulheres infetadas podem ou não desenvolver o SK. (92, 93, 94)

No estudo de Whiby et al. (1999), o DNA do HHV-8 é detectado em três de 11 amostras de cérvix uterina de mulheres soropositivas para o HHV-8, sugerindo que a transmissão do HHV-8, via contato vaginal, é possível, apesar da detecção do DNA viral não provar a presença do vírus ativo nem capacidade de replicação viral no trato genital. (94)

Estudo realizado nos Estados Unidos demonstra uma possível transmissão por transfusão sanguínea, através de amostras de soro de 406 pacientes de Baltimore, Maryland, de 1986 a 1990, onde a infecção é detectada pela técnica de IFA lítica. Entre 284 pacientes, inicialmente, soronegativos e que recebem transfusões, 2 soroconvertem, após 6 meses. Estes pacientes receberam de 12 a 13 unidades de sangue, respectivamente, e os pacientes

não submetidos às transfusões permaneceram negativos para HHV-8, sugerindo que há a transmissão via transfusão sanguínea. (95)

Recentemente, discute-se a associação entre a infecção pelo HHV-8 e o uso de drogas endovenosas. Cannon et al. (2000), ao realizar um estudo com mulheres usuárias de drogas, observa se há uma relação entre a infecção pelo HHV-8 e a transmissão pelo compartilhamento de agulhas contaminadas, porém, com menor risco em relação aos vírus da hepatite B, hepatite C e ou HIV. (96)

A transmissão do HHV-8 entre transplantados de órgãos também tem sido averiguada. A maioria dos casos de SK em imunossuprimidos ocorre por reativação da infecção preexistente, apesar da infecção ocorrer através do órgão transplantado. (97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104).

Estudo realizado na Arábia Saudita, região onde a incidência de SK é dez vezes maior do que nos Estados Unidos e Europa, demonstra que a soroprevalência de HHV-8 é maior em pacientes renais crônicos do que na população geral, sugerem que o HHV-8 pode ser transmitido na hemodiálise. (105)

A soroprevalência de HHV-8 varia de acordo com a idade, sexo e distribuição geográfica (Tabela 2). Assim, de acordo com a distribuição geográfica, encontra-se elevada na Arábia Saudita e África com aproximadamente 40% de soropositividade. Em países do Mediterrâneo a soroprevalência é de aproximadamente 10%. No Norte da Europa, Sudeste da Ásia, e países do Caribe, têm índices de soroprevalência entre 2 a 4%. Nos

EUA, a média varia de 5 a 20%. Em indivíduos com SK associado a AIDS, clássico ou endêmico e outras doenças associadas ao HHV-8 como doença de Castleman's e o linfoma de cavidade (PEL) a soroprevalência é maior que 80%. Em populações com HIV-1 sem SK, a soroprevalência é elevada (20-50%) na população geral, exceto no sudeste da Ásia e Caribe, onde não tem sido reportada a associação SK/AIDS. A Itália e a Grécia têm demonstrado áreas com alta incidência de SK clássico. (106)

Tabela 2 - Descreve a prevalência de HHV-8 em doadores de sangue no mundo.

<u>Autor</u>	<u>n°</u>	<u>Prevalência</u>	<u>Metodologia</u>	<u>Local</u>
<u>P.E.Pellet et al</u>	<u>1000</u>	<u>3,5%</u>	<u>IFA LANA</u>	<u>USA</u>
<u>Louise G.Chatlynne et al</u>	<u>91</u>	<u>11,0%</u>	<u>IFA LANA/ Litico / ELISA</u>	<u>New York</u> <u>USA</u>
<u>S.David Hudnall et al</u>	<u>100</u>	<u>23,0%</u>	<u>IFA LANA / Litico</u>	<u>Houston, Texas / USA</u>
<u>Jacques Baillargeon et al</u>	<u>1534</u>			

15%

IFA LANA / Litico

Texas / USA

David J.Blackbourn et al

11

9%

PCR CD19+

USA

Guy R.Simpson et al

174

117

3 (1,72%)

6 (5,13%)

Elisa ORF 65

UK

USA

Attila Juhász et al

1.089

1,56%

IFA LANA

Hungria

Nicolas Regamey et al

178

5,0%

IFA LANA
Elisa ORF 65

Suíça

G.Gambús et al

613

6,5%

IFA LANA

Espanha

Denise Whitby et al

747

467

280

13,8%

7,3%

24,6%

IFA LANA

Toda Itália

Centro/Norte

Sul

Kouri V et al

171

1.2%

IFA LANA

Imunoblot ORF65

Cuba

S.Kozireva et al

150

0%

PCR

Latvia

Tatsusya Fujii et al

1000

0,2%

IFA LANA

Japão

Malin Envom et al

174

48.0%

23.0%

20.0%

IFA LANA

IFA LANA/IFAlitico

PCR

Tanzania

Africa

L.Bélec et al

149

49(32,89%)

11(22,0%)

IFA / Elisa

PCR

Banqui/

AfricaCentral

Yi Fen Wang et al

174

23%

Western blot

ORF 16,57,71

Taiwan

Autor				
PELLET ET AL., 2003 (69)	1000	3,5%	IFA LANA	USA
ENBOM ET AL., 2002 (70)	174	23,0%	IFA LANA	Tanzania
JUHÁSZ ET AL., 2001 (71)	1.089	1,56%	IFA LANA	Hungria
KOZIREVA ET AL., 2001 (72)	450	0%	PCR	Latvia
CHATLYNNE ET AL., 1998 (73)	91	11,0%	IFA LANA/ Litico / ELISA	New York USA
HUDNALL ET AL., 2003 (74)	400	23,0%	IFA LANA / Litico	Houston, Texas / USA
BAILLARGEON ET AL., 2001 (75)	1534	15%	IFA LANA / Litico	Texas / USA
BÉLEC ET AL., 1998 (76)	149	49(32,89%)	IFA / Elisa	Bangui/ Africa
SIMPSON ET AL., 1996 (77)	174	3 (1,72%)	PCR	UK
BLACKBOURN ET AL., 1998 (78)	117	6 (5,13%)	Elisa ORF 65	USA
KOURI ET AL., 2004 (79)	41	9%	PCR CD19+	USA
WANG ET AL., 2002 (80)	174	1,2%	IFA LANA	Cuba
WHITBY ET AL., 1998 (81)	174	23%	Imunoblot ORF65	Taiwan
FUJII ET AL., 1999 (82)	747	13,8%	Western blot	Toda Itália
GAMBÚS ET AL., 2001 (83)	467	7,3%	ORF 16,57,71	Centro/Norte Sul
REGAMEY ET AL., 1998 (84)	280	24,6%	IFA LANA	Japão
	1000	0,2%	IFA LANA	Espanha
	613	6,5%	IFA LANA	Suíça
	178	5,0%	IFA LANA	Local
	178	5,0%	Elisa ORF 65	
AUTOR	n°	Prevalência	Metodologia	Local
PELLET ET AL (107)	1000	3,5%	IFA LANA	USA
CHATLYNNE ET AL (108)	91	11,0%	IFA LANA/ Litico / ELISA	New York USA

HUDNALL ET AL (109)	100	23,0%	IFA LANA / Litico	Houston, Texas / USA
BAILLARGEON ET AL (110)	1534	15%	IFA LANA / Litico	Texas / USA
BLACKBOURN ET AL (111)	11	9%	PCR CD19+	USA
SIMPSON ET AL (112)	174	3 (1,72%)	Elisa ORF 65	UK
	117	6 (5,13%)		USA
JUHÁSZ ET AL (113)	1.089	1,56%	IFA LANA	Hungria
REGAMEY ET AL (114)	178	5,0%	IFA LANA Elisa ORF 65	Suíça
GAMBÚS ET AL (115)	613	6,5%	IFA LANA	Espanha
WHITBY ET AL (116)	747	13,8%	IFA LANA	Toda Itália
	467	7,3%		Centro/Norte
	280	24,6%		Sul
KOURI ET AL (117)	171	1.2%	IFA LANA Imunoblot ORF65	Cuba
KOZIREVA ET AL (118)	150	0%	PCR	Latvia
FUJII ET AL (119)	1000	0,2%	IFA LANA	Japão
ENBOM ET AL (120)	174	48,0%	IFA LANA	Tanzania
		23,0%	IFA LANA/IFAlitico	Africa
		20,0%	PCR	
BÉLEC ET AL (121)	149	49(32,89%)	IFA / Elisa	Bangui/
		11(22,0%)	PCR	AfricaCentral
WANG ET AL (122)	174	23%	Western blot ORF 16,57,71	Taiwan

Gambús et al. (2001), para determinar a prevalência e distribuição da infecção pelo HHV-8 em diferentes subpopulações, analisam um total de 1699 amostras, sendo 613 de doadores de sangue, 100 de crianças até 12 anos, 382 de usuários de drogas injetáveis, 273 heterossexuais atendidos na clínica de

doenças sexualmente transmissíveis e 331 homens homossexuais atendidos na clínica de doenças sexualmente transmissíveis ou no hospital para pacientes com HIV. A soroprevalência geral de anticorpos para HHV-8 em doadores de sangue é de 6,5% (7% em Andaluzia, 8% em Catalonia e 4,5% em Basque). Nenhuma criança apresentou soropositividade para HHV-8. A prevalência do HHV-8 em homens homossexuais HIV-positivos era de 86,7% e 28% em homens homossexuais HIV-negativos ($p < 0.001$). Em homens heterossexuais atendidos na clínica de doenças sexualmente transmissíveis, 17,2% eram positivos e, 11,5% UDEV são positivos para HHV-8. A prevalência entre doadores de sangue na Espanha é mais alta do que no Norte da Europa e EUA, mas é similar ao Norte da Itália. A distribuição do HHV-8 é compatível com um agente sexualmente transmissível. (115)

Jacques et al. (2002), avalia a soroprevalência e possíveis riscos de infecção para o HHV-8 em 123 crianças com idade de 4 a 13 anos, que são atendidas em clínicas pediátricas no Sul do Texas. O soro é analisado em anticorpos para HHV-8 por IFA latente e Elisa, a partir de proteínas recombinantes da ORF 65 e confirmados por imunoblot. A prevalência geral determinada nesta população é de 26%. (123)

Sitas et al. (1999), realizam uma pesquisa de anticorpos para HHV-8 em 3293 pacientes negros do Sul da África com câncer (outros tipos de câncer que não seja SK). A prevalência de anticorpos para HHV-8 pela técnica de imunofluorescência é de 32%, os resultados apresentam um aumento

diretamente proporcional com a idade ($p < 0.001$) e também um aumento em relação ao número de parceiros sexuais ($p < 0.05$). (124)

Dados epidemiológicos da população americana, através da detecção de anticorpos por IFA, mostram uma soropositividade de 1% (2 em 141) em doadores de sangue HIV negativos, 7% (7 em 107) em heterossexuais HIV negativos com sífilis, 13% (3 em 23) em homossexuais / bissexuais masculinos HIV negativos com sífilis e 35% (13 em 37) em homossexuais /bissexuais masculinos HIV positivos com sífilis. Assim, a soroprevalência do HHV-8 é mais elevada entre homens que relatam um grande número de parceiros sexuais ou história de doenças sexualmente transmissíveis. (12, 56, 71, 125)

A soroprevalência em estudo realizado por Hudnall et al. (2003), utilizando a técnica de IFA, encontram um índice de 23% de anticorpos contra antígeno lítico e 5% para antígeno latente em doadores de sangue em Houston, Texas, EUA. É realizado o teste de PCR para todas as amostras positivas, mas nenhuma apresenta teste de DNA positivo. (109)

Preiser et al. (2001), realizam na Alemanha, uma pesquisa em 603 amostras de soros de 12 diferentes grupos de pacientes. São utilizados para a análise: um teste de imunofluorescência (IFA) para detecção de anticorpos latentes e líticos e Elisa com proteínas recombinantes ORF 73 do antígeno nuclear e a proteína K 8.1. A soroprevalência encontrada em doadores é 3 % para o teste de IFA; 2 % para o teste de Elisa; e, 100% para pacientes com SK. Entretanto, para homens com HIV positivos sem SK é de 23,3% para o teste de

IFA e 17,8% para Elisa. E, para mulheres HIV positivas sem SK é de 15,7% para IFA e 13,7% para Elisa. (126)

Juhasz et al. (2001), avaliam a soroprevalência de HHV-8 em soros de doadores de sangue na Hungria, através dos testes de Elisa e de imunofluorescência indireta (IFA). A soroprevalência geral pelos dois ensaios é de 2,28% (11/482). (113)

Em outro estudo realizado com 150 doadores de sangue na Latvia, usando a técnica de PCR, nenhuma das amostras analisadas apresenta resultados positivos para HHV-8. (118)

Souza et al. (1998), iniciam estudos de soroprevalência de infecção pelo HHV-8 usando ensaios de ELISA ORF65 e IFI-LANA BCBL-1 em várias populações expostas a diferentes categorias de risco no Estado de São Paulo, encontram 0% de soroprevalência de anticorpos anti-LANA e 2% de anticorpos contra antígeno recombinante vp19/ORF65 em doadores de sangue. Encontram, ainda, uma prevalência de 88% nos casos de SK, 18% na população infectada pelo HIV e 2,2% no grupo de DSTs. Entretanto, houve maior positividade quando utilizado o ensaio ELISA ORF 65. (127)

No Brasil, pacientes HIV positivos com e sem SK, mostram uma soroprevalência de 97,4% e 26%, respectivamente (102). Em outro estudo com 267 pacientes brasileiros utilizando a técnica de IFA para anticorpos anti-LANA, apresenta uma positividade de 64% entre homossexuais infectados pelo HIV com SK. Portanto, na população masculina, a prevalência de anticorpos anti-HHV-8 é significativamente maior entre homossexuais do que entre

heterossexuais UDEV, sugerindo que a infecção pelo HHV-8 no Brasil segue o mesmo padrão epidemiológico de outras partes do mundo (Tabela 3). (128)

Caterino-de-Araújo et al. (1999), analisam 81 amostras de soro de Banco de Sangue e 81 amostras de soros de indivíduos infectados pelo HIV e relatam 7,4% e 30,4% de soroprevalência de anticorpos anti-LANA respectivamente. (129)

Caterino-de-Araujo et al. (2003), realizam o primeiro estudo de transmissão vertical de anticorpos dirigidos ao HHV-8, em 108 crianças nascidas de mães infectadas pelo HIV no Estado de São Paulo, sendo 80% usuárias de drogas com uma prevalência de 7,4 e 6,4% para anticorpos latente e lítico pela técnica de IFA. Interessante observar que a detecção de anticorpos varia de acordo com a sorologia da criança em relação à infecção pelo HIV-1. A prevalência é de 0%, 10,9 % e 8,3% para crianças HIV-1 negativo, HIV-1 positivas e HIV-1 indefinido, respectivamente. Esse estudo sugere que ocorra a transmissão do HHV-8 de mãe para criança e as vias de transmissão, ainda, não estão bem definidas, podendo ser vertical ou horizontal e a infecção pelo HIV-1 nas mães parece possibilitar a infecção. (130)

A soroprevalência em crianças nascidas de mães infectadas com HIV-1 em São Paulo determina uma prevalência de 5% (5/99) pela técnica de IFA lítico, mostrando que a infecção pelo HHV-8 pode ocorrer durante a infância. As crianças com idade entre 1,5 a 2 anos, apresentam uma prevalência de 2% (1/50) e de 3,25 a 13,8 anos, 8% (4/49). Estudos prospectivos são necessários

para avaliar os fatores de riscos na infecção primária do HHV-8 na população pediátrica. (131)

Pesquisa realizada em São Paulo, Brasil por Caterino-de-Araújo et al. (2003), em três grupos distintos: grupo I: 163 mulheres infectadas com HIV-1; Grupo II: 108 crianças nascidas de mães infectadas com HIV-1; e Grupo III: 630 mulheres saudáveis HIV-1 negativas. O Grupo I tem apresentado uma frequência de anticorpos de 8,6% sendo 1,2% para anticorpos anti-latente e 8,0% anti-lítico. No Grupo II não é encontrado nenhum anticorpo anti-latente e 7,4% anti-lítico. A prevalência no Grupo III encontrada é de 1,1% anticorpos anti-latente e 0,3% anti-lítico. Visando estabelecer a epidemiologia do HHV-8 em mulheres de São Paulo de acordo com os fatores de comportamento, com ênfase sexual e sanguínea na rota de transmissão / aquisição do vírus. Entretanto, anticorpos para HHV-8 são encontrados em mulheres infectadas com HIV e em nenhum dos grupos é detectado caso de SK. Os fatores de proteção para o não desenvolvimento do SK podem estar relacionados com a idade e a terapia antiretroviral introduzida no Brasil desde 1994. (132)

Estudo de prevalência de anticorpos para HHV-8 usando um ensaio imunoenzimático (ELISA) tem sido uma ferramenta utilizada por Freitas et al, (2002), em Guamá e Terra Firme (Belém, Pará, Norte do Brasil). A prevalência geral encontrada nessas regiões é de 16,3% , esses índices aumentam, gradualmente com a idade. Quando a soroprevalência é avaliada por sexo, índices similares são encontrados, 18,4% entre mulheres e 14,0% entre homens. (133)

Tabela 3: Descreve a prevalência de HHV-8 na população do Brasil.

Autor	População	Nº	Prevalência	Metodologia	Local
Biggar et al (35)	Indios	781	53%	IFA LANA	Belem/Brasil
	Mulheres HIV1+	163	8,6%		
Caterino-de-Araujo et al (132)	Crianças de mães HIV-1+	108	7,4%	IFA LANA	São Paulo Brasil
	Mulheres HIV1-	630	1,1%		
Keller et al (134)	HIV+ / SK+	39	74,3%	PCR	Vitória-ES Brasil
	HIV+ / SK-	27	3,7%		
Caterino-de-Araujo et al (135)	Biopsia Pacientes com AIDS / SK+	7	100%	Nested PCR	São Paulo Brasil
Souza et al (136)	Crianças/jovens	643	2,5%	IFA Lítico IFA LANA	São Paulo Brasil
	MSM HIV-	95	32,6%		
	HIV+/SK+ HIV+/SK-	78 130	98,7% 39,2%		
Freitas et al (133)	Crianças/Adultos	497	16,3%	Elisa	Pará - Belém Brasil
Cunha et al (137)	Pacientes com MM	48	2%	PCR	Campinas- SP Brasil
Caterino-de-Araujo et al (129)	Doadores de sangue	81	7,4%	IFA LANA	São Paulo Brasil
Pérez et al (138)	Doadores de sangue	319	2,8%	IFA Lítico	Campinas - SP Brasil
Zago et al (125)	Doadores de sangue	747	4,6%	IFA LANA	Vitória – ES Brasil

Recentemente, estudos de soroprevalência usando imunofluorescência detectam altos percentuais de pacientes soropositivos para HHV-8 e identifica um novo subtipo, o subtipo E, detectado em diferentes tribos de ameríndios no norte do Brasil, mostrando ser endêmico, sem causar doença nesta população.

Não são identificadas, nesta população, infecções por HIV ou SK, mostrando que a transmissão de HHV-8, ocorre mais pela forma oral do que pela sexual. (38)

Souza et al. (2004), determina uma prevalência de anticorpos em crianças saudáveis e jovens adultos de diferentes cidades do Estado de São Paulo e, em populações de alto risco a infecção: HSH HIV-negativo e pacientes com AIDS com e sem SK. Os anticorpos para HHV-8 associados ao antígeno nuclear latente e antígenos de fase lítica são detectados por IFA. A prevalência de anticorpos encontrada entre crianças e jovens saudáveis varia de 1- 4,1% entre as diferentes regiões do Estado de São Paulo (média de 2,5%). Em HSH a prevalência é de 32,6%, no grupo de pacientes com AIDS a prevalência é de 39,2% para os sem SK, e de 98,7% em indivíduos SK /AIDS. (136).

Estudo de soroprevalência realizado em um grupo de 497 pacientes com HIV-1, atendidos no Centro de Referência AIDS em Santos - SP entre fevereiro 1997 a janeiro de 1998, avaliados pelos testes para detecção de anticorpos para HHV-8 (IFA LANA, IFA lítico e Elisa recombinante ORF 65), encontram uma prevalência geral de 13,9% com infecção pelo HHV-8, mais freqüente em homens que fazem sexo com homens 32,4% ($p < 0,001$), comprovando que o grupo tem um alto risco para a infecção pelo HHV-8 e epidemiologicamente a infecção HIV/AIDS em pacientes de Santos, Brasil é similar à descrita em outros países com baixos índices de SK. (139)

Em estudo realizado por Pérez et al. (2004), em 2470 amostras de doadores de sangue da Argentina, Brasil, e Chile estudadas por IFA, encontram

uma soroprevalência de 4% na Argentina, 4,3% em Buenos Aires, 2,4% em Bahia Blanca, 4% Córdoba, 2,8% Campinas (Brasil) e 3% Santiago do Chile. (138)

1.6. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O HHV-8 incide em todos os tipos de SK e, também, em algumas formas de linfoma Hodgkin's e não-Hodgkin's de células B com efusão em cavidades, chamado de linfoma por efusão primária (PELs) ou linfoma de células de cavidades do corpo "*Body-Cavity-Based* – BCBLs", em doença linfoproliferativa angiofolicular (Doença de Castleman's) e em mieloma múltiplo. (13, 15, 140, 141, 142, 143, 144, 145)

1.6.1. Sarcoma de Kaposi (SK)

O Sarcoma de Kaposi é classificado pelos aspectos clínicos - epidemiológicos o SK em 4 formas: clássico, vista em homens idosos de origem no Mediterrâneo; endêmico em jovens e crianças na África; epidêmico,

associado com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS); iatrogênico associado ao uso de terapia imunossupressora e em transplantados. (146)

Na forma clássica, o SK é uma enfermidade, que acomete mais homens do que mulheres, em média 15:1, manifestando-se a partir dos 50 anos de idade e é característico do sul da Europa, na Itália, Grécia e em judeus no leste europeu. Em princípio, descrita por Kaposi, apresenta evolução lenta, identificada pelo aparecimento de uma ou mais lesões vermelho-azuladas de aspecto inflamado na porção distal dos membros inferiores. O SK clássico tem um curso crônico e, raramente evolui a metástases para outros órgãos, mas, no decorrer dos anos, as lesões tendem a se tornarem mais numerosas centripetamente, nodulares e, às vezes, complicam-se por envolvimento dos linfonodos, trato gastrintestinal, pulmão, fígado e outras vísceras. Raramente, as lesões viscerais precedem as cutâneas. Mesmo com a disseminação, o progresso da doença é lento, raras vezes, é fulminante e 90% dos pacientes morrem de distúrbios intercorrentes, sendo que cerca de um terço apresentam ou evoluem para o linfoma. Os pacientes sobrevivem, em média, de 10 a 15 anos antes de morrer e em geral, por outro motivo não relacionado. Pacientes com SK clássico parecem ter um risco aumentado para adquirir outras neoplasias. (147)

O SK endêmico prevalece entre os países da África, destacando-se Uganda e Zâmbia, apresentando a mesma distribuição geográfica que o linfoma de Burkitt. Os indivíduos da raça branca nessa mesma região não apresentam aumento da prevalência de SK. Todas as faixas etárias são acometidas da

doença, sendo que no sul da África corresponde de 25% a 50% dos sarcomas de tecidos moles nas crianças. O SK africano endêmico apresenta clinicamente quatro padrões distintos: 1) nodular benigno, doença cutânea que imita o SK clássico, predomina em adultos jovens (idade média de 35 anos) atingindo homens e mulheres, numa relação 13–17/1, respectivamente; 2) doença cutânea localizada agressiva que invade o tecido mole e é normalmente fatal dentro de 5–7 anos; 3) mucocutânea e doença visceral; 4) linfadenopática fulminante, do qual infecta de forma disseminada para os linfonodos e órgãos viscerais; na ausência de lesões cutâneas, acomete crianças jovens, idade média de 3 anos e, atinge homens e mulheres, numa relação 3/1. Uma outra forma está relacionada com a síndrome da imunodeficiência. Considerando que o SK-AIDS é tipicamente negativo em EBV, são descobertas a associação do HHV-8 e EBV em SK-AIDS africano, sugerindo que esses resultados, como o linfoma de Burkitt africano, podem representar um subconjunto biológico distinto de doença, na qual uma associação forte com EBV pode indicar uma patogênese que difere com o que acontece na maioria dos casos de SK não-africanos. (148)

O SK epidêmico está relacionado ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), acometendo de 15 a 20% destes pacientes. Nos pacientes de sexo masculino infectados pelo HIV, a incidência do SK é cerca de 20.000 vezes maior do que na população geral. Os homossexuais e bissexuais com AIDS têm uma maior probabilidade, 10 vezes maior, de desenvolverem SK do que nos

outros grupos de risco, devido às práticas sexuais estarem associadas ao SK. (149, 150, 151, 152)

As lesões apresentam-se de forma multifocal e simétrica, podendo surgir rapidamente em poucos dias, iniciando com mácula, evoluindo para a forma tumoral. Antes da terapia HAART, a primeira manifestação clínica das lesões de SK era na cavidade oral e observada no primeiro trimestre da infecção pelo HIV. O SK envolve estruturas oculares em até 20% dos pacientes, sendo que as lesões maculares observadas na conjuntiva eram as mais comuns e, relativamente benignas. (153, 154)

A forma de SK observado nos pacientes aidéticos, em geral, tem início com uma lesão nodular de pele ou mucosa, da qual se propaga rapidamente por nódulos e vísceras. Apesar da disseminação da doença, a maioria dos pacientes morre com infecção oportunista ou de um linfoma intercorrente. (44)

A forma de SK latrogênico está relacionada com o uso de terapia imunossupressora, em pacientes receptores de órgãos transplantados, nos quais constitui 4,1% de todas as malignidades (155). O intervalo médio entre o transplante e o diagnóstico de SK é por volta de 20 meses, variando de poucos meses a 18 anos, sendo que os fatores de risco para a ocorrência de SK são terapia imunossupressora empregada, infecções virais, bacterianas e fúngicas, durante o período pós-transplante. (156, 157, 158)

O SK em pacientes imunossuprimidos costuma ser algumas vezes agressivo, assumindo aproximadamente o padrão clássico. As lesões algumas

vezes regridem, quando o tratamento imunossupressor é interrompido. (159, 60)

1.6.2. Doença Multicêntrica de Castleman (MCD)

Esta doença foi descrita em 1956, como uma doença linfoproliferativa rara, associada à anemia hemolítica auto-imune e linfadenopatia. (161)

A doença de Castleman corresponde a um conjunto diverso de manifestações que são classificadas clinicamente em duas formas: 1) doença de Castleman localizada, geralmente é uma lesão única, mediastinal, com hiperplasia de linfonodo, que pode ser solucionada após remoção cirúrgica; 2) doença de Castleman sistêmica, caracteriza-se de forma multifocal ou multicêntrica. A doença de Castleman é caracterizada por manifestações sistêmicas que incluem febre, fraqueza, hepatoesplenomegalia, importante linfadenopatia generalizada e hipergamaglobulinemia em parte devido a elevação da interleucina 6, sugerindo que a expressão da interleucina 6 está implicada na patogênese da MCD, em particular na expressão de genes do HHV8 lítico. (16, 162)

As citopenias, erupções cutâneas e infecções intercorrentes não são incomuns e alguns pacientes com MCD podem desenvolver linfoma não Hodgkin. (163, 164)

A morfologia da MCD caracteriza-se pela presença de imunoblastos com núcleos centrais ou marginais proeminentes, em células-B foliculares ou do manto, que podem, formar microlinfomas monoclonais. Os marcadores imunológicos de células T (CD3, CD45R0) e os marcadores de células dendríticas (CD2, CD23) não se encontram presentes na MCD, todavia, estão presentes os marcadores de linfócito B CD20 e o marcador de célula B de memória CD27, mas está ausente a expressão de marcadores de ativação de células B como CD23, CD38, e CD30. (165,166,167, 168)

O DNA do HHV-8 é detectado em biópsias de linfonodos de pacientes com doença de Castleman; numa série de 31 casos, as seqüências de HHV-8 foram encontradas em todos os 14 pacientes infectados pelo HIV, incluindo cinco sem SK e 7 entre 17 pacientes sem HIV. (16)

1.6.3. PEL (Primary Effusion Lymphoma) ou BCBL (*Body Cavity Based Lymphoma*)

O linfoma de efusão primário ou BCBL pertence ao grupo de linfomas de células B não-Hodgkin e é um linfoma de células B, caracterizado por não apresentar massa tumoral sólida e, efusão linfomatosa em cavidades (pleura, pericárdio e peritônio), estando sempre associado ao HHV-8 e, eventualmente, precedendo o aparecimento de SK. O DNA de HHV8 foi identificado em linfoma de efusão primário. (25, 169, 170, 171)

As culturas de células obtidas de PEL de indivíduo HIV negativo, originam duas linhagens celulares infectadas pelo HHV-8, mas não pelo EBV (BC-3 e KS-1). (25, 26)

As células BCBL podem ser positivas para ambos HHV-8 e EBV ou, apenas, HHV-8. Em uma série de oito pacientes que tem seqüências de genes para HHV-8, apenas quatro apresentam seqüência para EBV. Em um estudo *in vitro* mostra que o antígeno nuclear associado à latência (LANA) do HHV-8 pode ativar duas regiões do EBV em células co-infectadas. (154, 172)

É notável que 25% dos pacientes com linfoma de efusão primária também têm o SK, embora a coexistência de HHV8 e EBV em lesões de pacientes com SK e linfoma de efusão primária, aumentem a possibilidade de provocar lesão em células B e, desta forma, deve ser um fator de risco para transformação neoplásica pelo efeito combinado destes dois vírus. (173,174)

O linfoma de efusão primária (PEL) tem marcadores de imunofenotipagem para antígeno de membrana epitelial CD30, assemelhando a uma morfologia plasmocitóide. O genótipo das células B apresenta um rearranjo dos clones de imunoglobulinas, porém, não apresenta rearranjo do gene c-myc e para os antígenos de linfócitos T e B. (167, 168, 175)

1.6.4. Neoplasia Linfóide

Há relatos que o HHV-8, também, está relacionado com neoplasia linfóide. Esse herpesvírus tem sido cogitado como um provável agente causal de algumas doenças linfoproliferativas pós-transplante. Na pesquisa de dois casos de HHV-8 positivos e EBV negativo, em proliferações linfóides policlonais, foram descritas, uma associação com SK. (176)

1.6.5. Mieloma Múltiplo e Macroglobulinemia de Waldestron

Dados da literatura têm evidenciado a presença de HHV-8 em células dendríticas de biópsias de medula óssea de pacientes com MM. A presença de ORF 26 (KS 330) e a expressão de um subtipo de HHV-8 C3 têm associado o HHV-8 ao MM e a macroglobulinemia de Waldestron. (15, 141, 177, 178)

1.6.6. Angiosarcoma e Sarcoidose

Estudos têm relatado a presença do DNA de HHV-8 na proliferação de tecido tumoral, e já foram descritos onze casos. Em um estudo realizado por Di Alberti et al. (1997), foi detectada a seqüência de DNA de HHV-8 em biópsias de tecidos de pacientes com sarcoidose. (179, 180, 181, 182, 183, 184)

1.7. DIAGNÓSTICO

Não existe um teste padrão ouro para a sorologia de HHV-8, atualmente os métodos de diagnóstico utilizados são: imunofluorescência (IFA), Western Blot e ELISA, para detectar anticorpos para uma variedade de antígenos do HHV-8, os quais incluem antígenos nucleares latentes (70), antígenos estruturais ou líticos (12) e antígenos recombinantes do capsídeo ou do envelope (112). Os resultados obtidos de sensibilidade e especificidade variam dependendo da metodologia empregada e da fase de infecção que o paciente se encontra, dificultando a comparação entre os diversos estudos. (185, 186, 187, 188, 189, 190, 191)

Algumas proteínas do HHV-8 são potentes imunógenos e por este motivo são usadas, como antígenos nos métodos de diagnóstico. Dentre essas proteínas podemos destacar: proteína ligante do DNA (ORF6), glicoproteína B (ORF8), DNA polimerase (ORF9), proteína do capsídeo principal (ORF25), proteína do capsídeo menor (ORF26), proteína de replicação do DNA (ORF59), proteína do capsídeo (ORF65), proteína de fase latente nuclear [(antígeno LANA) ORF73] e glicoproteína de classe 1 (ORF K8.1). (56, 70, 112, 83, 192, 193, 194, 195, 196)

A obtenção destes antígenos acontece através da cultura do HHV-8 em linhagens celulares de linfomas de células B de cavidade (BCBL, BCP). (56, 112, 83, 192, 92, 193, 194, 195, 196) Inicialmente, são utilizadas culturas celulares de linhagem duplamente infectadas por HHV-8 e EBV (BC-1 e BC-2). (70, 194, 196) Posteriormente, é possível selecionar e estabelecer linhagens

celulares infectadas apenas pelo HHV-8, sendo: BCBL-1 (obtida de fluido ascítico de paciente com BCBL e HIV), KS-1 e BC-3 (obtida de fluido ascítico de paciente com PEL e HIV negativo), BCP-1 (obtida de sangue periférico de paciente com PEL e HIV), e TY-1 (obtida de efusão pericárdica de paciente com PEL e HIV). (24, 25, 26, 197, 198)

Nas linhagens referidas, é possível realizar a replicação lítica do HHV-8 através da indução da cultura celular com forbol éster ou butirato de sódio, permitindo a expressão de genes de fase lítica (ORFs 59, 65 e K8.1). (56, 112, 83, 192, 92, 193, 194, 195, 196)

Estudos comparativos usando a mesma casuística e diferentes ensaios sorológicos mostram divergência de resultados e permitem concluir que nenhuma dessas metodologias deve ser empregada de maneira isolada no diagnóstico de infecção pelo HHV-8. (189, 199, 200, 201, 202, 203)

Em geral, os ensaios são pouco sensíveis em detectar os pacientes com HHV-8, porém, variam bastante quando são usadas amostras de indivíduos de baixo risco, como doadores de sangue. (189, 199, 200, 201, 202, 203)

1.7.1. Imunofluorescência Indireta para identificação de anticorpos contra antígenos de Fase Latente viral (IFI-LANA)

A imunofluorescência indireta (IFI-LANA) é preparada a partir de lâminas sensibilizadas com linhagens de células B infectadas pelo HHV-8 ou/e também por BCP1 e pesquisados anticorpos dirigidos a antígenos de fase latente de infecção viral (ORF73), sendo esse o componente responsável pelo padrão de fluorescência nuclear pontilhado identificado nas amostras de soro dos indivíduos infectados. (112, 119, 114, 189, 194, 196, 200, 201, 202, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212)

Para a retirada das possíveis reações cruzadas utilizam solução hipotônica que lisa a membrana citoplasmática e, portanto, não altera o núcleo. (71, 84, 86, 92)

1.7.2. Imunofluorescência Indireta para identificação de anticorpos contra antígenos de Fase Lítica viral (IFI-Lítico)

A IFA para detecção de anticorpos contra antígenos líticos do HHV-8 utiliza antígenos provenientes de efusão primária da linhagem celular de linfoma (ISI-1), acolhendo o HHV-8 na ausência do EBV. (112)

Como já mencionado, a fase lítica pode ser estimulada a partir da fase de latência utilizando substâncias específicas como o butirato, tetradecanoil acetato de formol (TPA) ou através da interação com EBV. (213, 214)

As lâminas são preparadas com linhagens de células B infectadas pelo HHV-8 e estimuladas por 48 a 72 horas, com forbol éster (TPA ou PMA), e

permite a detecção de anticorpos específicos em 5% a 20% das células infectadas. O padrão de fluorescência é de coloração difusa no citoplasma e forte nas membranas nuclear e citoplasmática. O padrão de fluorescência difusa em toda a célula representa anticorpos dirigidos a antígenos de fase tardia da infecção viral. Já a coloração forte na membrana externa reflete presença de anticorpos direcionados a proteínas do envelope viral e, a nuclear intensa está relacionada à presença de anticorpos dirigidos à proteína não estruturais do HHV-8. (108, 86, 196, 200, 201, 204, 205, 206, 207, 215, 216, 217, 218)

1.7.3. Imunofluorescência Indireta com Proteína Recombinante - IFI-r

As lâminas preparadas com células que não se infectam com herpesvírus (BHK-21) e nas quais são inseridos DNA viral que expressam proteínas recombinantes das ORF 73 e ORF K8.1 (Rsfv). Essa técnica aumentou a especificidade do ensaio de IFI, mas diminuiu sua sensibilidade. (219)

1.7.4. Imunofluorescência com anticorpo monoclonal – MIFA

As lâminas preparadas com células infectadas pelo HHV-8, mas que utilizam uma fase intermediária de ligação de anticorpos monoclonais anti-IgG

humano, produzidos em camundongos e conjugado anti-IgG de camundongo, visando aumentar a sensibilidade do método. (12, 189, 200, 203, 220)

1.7.5. Western Blot (WB-LANA)

O antígeno preparado a partir do lisado de células B infectadas pelo HHV-8, que após a ultracentrifugação é submetido à eletroforese em SDS-PAGE e transferido para a membrana de nitrocelulose. O antígeno LANA é identificado por reação imunoenzimática como proteínas de 234 e 226 Kda, quando se utiliza como fonte de antígeno células BC-1 (preparação nuclear de proteínas BC-1, codificado pelo gene KSHV ORF73), e 230 e 220 Kda quando se empregam células BCP-1. (60, 194, 196,199, 221)

1.7.6. Western Blot (WB ORF 65)

O antígeno preparado de lisado de células BCBL-1 e estimuladas com TPA (para estimular a cultura do estado latente para o estado lítico), são submetidas à eletroforese e transferidas para a membrana de nitrocelulose. O antígeno codificado pela ORF 65 do HHV-8 é detectado pelo anticorpo específico como a proteína de 60 Kda. (83, 199, 203, 209, 222)

1.7.7. Western Blot (WB ORF K8.1)

O antígeno preparado de lisado de células BCBL-1 e estimuladas com TPA (para estimular a cultura do estado latente para o estado lítico), são submetidas à eletroforese e transferidas para a membrana de nitrocelulose. O antígeno codificado pela ORF K8.1 do HHV-8 é detectado pelo anticorpo específico direcionados as glicoproteínas de 35-37 Kda. (188)

1.7.8. Radioimunoprecipitação RIPA LANA e Lítico

O antígeno preparado a partir de lisado de células infectadas pelo HHV-8, em fase latente ou lítica de replicação viral, submetido a SDS-PAGE e transferido para a membrana de nitrocelulose e a detecção de anticorpos específicos ocorre através do uso de uma sonda radioativa. (222, 223, 224, 225)

1.7.9. ELISA

O Elisa ORF 65, utiliza um fragmento de antígeno recombinante (aminoácidos 86-170) preparado a partir de um segmento da ORF 65 (região imunodominante) que codifica uma proteína do capsídeo viral do HHV-8 de 19 Kda. (112, 200, 209)

O Elisa ORF 59 utiliza um fragmento de antígeno recombinado preparado a partir de um segmento da ORF 59 que codifica uma proteína de 50 Kda. (198)

O Elisa recombinante misto é preparado a partir de uma mistura de proteínas recombinantes provenientes dos segmentos ORFs 59, 65, 73 e K8.1, dessa forma, proporciona uma vantagem sobre os métodos anteriores por incluir antígenos presentes em diferentes fases da infecção do HHV-8 (latente e lítica). (226)

O ensaio imunoenzimático (ELISA) preparado a partir de peptídeos sintéticos de 12 a 20 aminoácidos provenientes de epítomos imunodominantes presentes nas proteínas codificadas pelas ORFs 26 e 65. (205, 227, 228)

1.7.13. Reação em Cadeia da Polimerase – PCR

A detecção de DNA circulante em leucócitos tem sido empregada com método diagnóstico PCR, através da análise da amplificação da seqüência do gene nas amostras de biópsias e nas células mononucleares do sangue periférico (PBMCs). Para a análise da seqüência de DNA do HHV-8, utiliza-se o método de PCR “nested” para amplificar um par de bases de 233 fragmentos derivados do ORF 26. (56)